

BAB 4. METODE PENELITIAN

Pada Tahun I penelitian ini dilakukan 3 tahap percobaan sebagai berikut:

1. **Percobaan 1** : Penentuan bahan baku pupuk organik

Tujuan percobaan adalah untuk mendapatkan komposisi bahan baku pupuk organik yang berkualitas dari sampah kota dan limbah pertanian. Alat yang digunakan : cangkul, parang, garu, timbangan, ayakan, gelas ukur, gembor, sekop, oven, papan, karung goni, ember plastik ukuran 30 x 40 cm, Thermometer, mesin pencacah tipe ER3 kapasitas 1000 kg/jam, Sprayer, kertas label, alat tulis, alat dokumentasi dan alat penunjang lainnya. Bahan yang digunakan antara lain: sampah kota (sampah pasar, sampah restoran, sampah rumah tangga), limbah pertanian (tandan kosong kelapa sawit, jerami padi, kulit singkong, kulit pisang), Mikroorganisme Selulolitik (MOS), pupuk kandang ayam, abu bakar, pupuk kandang sapi.

Percobaan dilaksanakan secara eksperimen menggunakan Rancangan Acak Lengkap 2 faktor dan 3 ulangan. Perlakuan bahan baku pupuk organik dari sampah kota dengan 3 taraf yaitu sampah pasar, sampah rumah tangga dan restoran serta limbah pertanian dengan 4 taraf yaitu tandan kosong sawit, jerami padi, kulit pisang dan kulit singkong dengan bahan perombak MOS (mikroorganisme selulolitik) sehingga diperoleh beberapa kombinasi komposisi bahan baku pupuk organik berkualitas (kandungan hara tinggi). Data yang diperoleh hasil penelitian dianalisis secara statistik dengan menggunakan *Analysis of variance*.

Pelaksanaan Penelitian

Pengumpulan bahan kompos dari sampah kota dan limbah pertanian. Bahan baku kompos setelah terkumpul kemudian dicacah dengan mesin pencacah tipe ER3 dengan ukuran 3-5 cm. Sebelum dikomposkan, dilakukan penentuan kadar air bahan dengan tujuan untuk menentukan kebutuhan bahan pada setiap unit percobaan. Selanjutnya dilakukan penimbangan bahan baku sesuai perlakuan yaitu 1:1 dan bahan pengkaya.

Bahan pengkaya unsur hara kompos di antaranya pupuk kandang ayam 10 %, pupuk kandang sapi 5 %, abu arang kayu 1 % dan mikroorganisme selulolitik

0,5 % dari berat bahan kompos. Semua bahan dicampur secara homogen kemudian dimasukkan ke dalam ember plastik berukuran 30 x 40 cm setiap unit percobaan diisi dengan 2 kg bahan.

Pemeliharaan kompos terdiri atas: 1) aerase, pengaturan aerase dilakukan dengan pembalikan bahan kompos secara manual (tangan). Pembalikan setiap 7 hari dimulai 3-5 hari setelah pengomposan dan dilakukan 7 hari sekali sampai akhir penelitian. 2) penyiraman, kadar air kompos dipertahankan 60-70%. Caranya meremas bahan kompos dengan tangan, lalu setelah diremas ada air yang terkait juga ditelapak tangan, artinya kadar air bahan kompos sudah 60-70%, penyiraman tidak dilakukan dan sebaliknya. Penyiraman dilakukan bersamaan dengan pembalikan yaitu 7 hari sekali sampai akhir penelitian. 3) Pembersihan dilakukan pada sekeliling pot, agar areal pot tetap bersih sehingga kompos tidak diganggu oleh makro flora seperti tikus, babi hutan dan semut. Gulma yang tumbuh disekitar tempat pengomposan secara manual (tangan) yaitu gulma dicabut dua minggu sekali.

Pengamatan dilakukan terhadap kandungan hara makro N (Lampiran 1), P (Lampiran 2), K (Lampiran 3), unsur mikro, kandungan logam berat (Merkuri, Timbal), nisbah C/N (Lampiran 4), kadar air (Lampiran 5), suhu, pH (Lampiran 6), waktu kematangan kompos, bahan organik, mikroba dan jumlah total populasinya. Selanjutnya akan digunakan pada percobaan-percobaan berikutnya hingga diperoleh pupuk organik yang diperkaya sesuai standar SNI (Lampiran 7) merupakan tujuan akhir dari keseluruhan penelitian ini.

2. **Percobaan 2** : Isolasi, uji potensi dan identifikasi mikroba pendekomposisi

Tujuan percobaan adalah untuk mendapatkan isolat yang berkemampuan tinggi dalam mempercepat perombakan bahan baku pupuk organik. Isolasi dan uji potensi akan dilakukan pada sampah pasar dan TPA (Tempat Pembuangan Akhir) meliputi kulit durian, mahkota nenas, sampah pasar dan tandan buah pisang setengah melapuk, mengikuti metode tuang dan gores pada media padat dan cair selulosa (Hadjoetomo, 1993) sedangkan pada limbah pertanian sudah didapat isolatnya (MOS) pada beberapa penelitian yang telah dilakukan sebelumnya koleksi Gusmawartati Laboratorium Ilmu Tanah Faperta Universitas Riau..

1. Isolasi Mikroorganisme Selulolitik

a. Tempat dan Waktu

Isolasi mikroorganisme selulolitik dilakukan di Laboratorium Biologi Tanah Fakultas Pertanian Universitas Riau dari bulan April – Juni 2013. Bahan yang digunakan sebagai sumber isolat adalah kulit durian, mahkota nenas, tandan buah pisang dan sampah pasar yang berasal dari TPA Muara Fajar, Pekanbaru.

b. Bahan dan Alat

Bahan – bahan yang digunakan adalah : kulit durian, mahkota nenas, tandan buah pisang dan sampah pasar, alkohol 96%, aquades, formalin, NaCl, media CMC (*Carboxymethyl Cellulose*), *congo red*.

Alat yang digunakan: gelas piala, *erlenmeyer*, tabung reaksi, *petridish*, pipet volume, timbangan digital, bunsen, jarum ose, spatula, pengaduk, *automatic mixer*, rak tabung reaksi, tabung fiber, *sprayer*, oven, inkubator, otoklaf, *refrigerator*.

c. Metode penelitian

Isolasi mikrob selulolitik dari kulit durian, mahkota nenas, tandan buah pisang dan sampah pasar dilakukan dengan menggunakan metode Cawan Gores dan Agar Tuang (Hadioetomo, 1993). Untuk isolasi dan purifikasi sampel yang diuji diperlukan media isolasi yang selektif, pada penelitian ini digunakan media CMC (Lampiran 8).

d. Pelaksanaan

Isolasi mikroorganisme selulolitik dari masing-masing sumber isolat kulit durian, mahkota nenas, tandan buah pisang dan sampah pasar dilakukan dengan membuat seri pengenceran 10^{-1} - 10^{-10} , kemudian ditimbang 20 g sampel dimasukkan ke dalam 180 mL aquades steril secara aseptis dan di shaker hingga homogen. Kemudian 1 mL suspensi dimasukkan ke dalam 9 mL aquades steril dan begitu seterusnya hingga diperoleh pengenceran 10^{-10} dan ditumbuhkan pada masing-masing *petridish* pada media agar CMC kemudian di inkubasi 28°C selama 3 hari. Skema isolasi mikroorganisme terlihat pada Lampiran 9 dan 10.

e. Pengamatan

Pengamatan dilakukan terhadap koloni yang tumbuh, apabila terbentuk zona bening disekitar koloni dilanjutkan dengan purifikasi dan uji potensi mikroorganisme selulolitik.

2. Uji Potensi Mikroorganisme Selulolitik Skala Laboratorium

a. Tempat dan Waktu

Uji potensi mikroorganisme selulolitik dilakukan di Laboratorium Tanah Fakultas Pertanian Universitas Riau dari bulan Juli-Oktober 2013.

b. Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan adalah isolat-isolat terseleksi, media CMC cair, larutan Benedict, tepung TKS.

Alat yang digunakan: erlenmeyer, tabung reaksi, cawan petri, oven, timbangan, pengaduk, kapas, *aluminium foil*, inkubator, *shaker*, sentrifus, *water bath*, otoklaf, jangka sorong.

c. Metode penelitian

Isolat-isolat terseleksi diuji aktivitas selulolitiknya terhadap bahan selulosa CMC (CarboxiMethylCellulose) cair dan tepung TKS (Tandan Kosong Sawit). Pengujian gula reduksi pada media cair dilakukan dengan uji kualitatif menggunakan reaksi pembentukan warna (uji benedict). Pada tepung TKS dilakukan berdasarkan metode pengukuran zona bening agar. Data yang diperoleh berupa aktivitas mikrob selulolitik terhadap CMC cair dan tepung TKS (media padat) akan disajikan secara deskriptif.

d. Pelaksanaan

Isolat-isolat terseleksi diinkubasi pada suhu kamar selama 4 hari sebelum dilakukan uji kualitatif gula reduksi, kemudian disterilisasi pada suhu 121⁰C dan tekanan 15 psi selama 30 menit. Media kultur disentrifuse pada kecepatan 5000 rpm selama 20 menit dan diambil supernatannya. 5 mL supernatan ditambahkan 1 mL pereaksi Benedict, dikocok homogen dan dipanaskan pada air mendidih selama 10 menit. Sampel dinyatakan positif mengandung gula pereduksi jika ditemukan endapan merah bata.

Pengujian pada media padat (tepung TKS) dilakukan dengan mensuspensikan 1 ose koleksi isolat ke dalam 5 mL CMC cair dan diinkubasi pada suhu kamar selama 24 jam. Kemudian diinokulasikan/digoreskan 1 ose ke dalam lempeng media padat (tepung TKS) dan diinkubasi selama 4 hari. Koloni-koloni isolat yang menunjukkan adanya zona bening sekitar koloni diukur diantara zona bening dan koloninya dengan kapiler jangka sorong. Skema uji potensi mikroorganisme selulolitik terlihat pada Lampiran 11.

e. Pengamatan

Isolat-isolat yang berpotensi selanjutnya dilakukan Identifikasi morfologi secara makroskopis dan mikroskopis.

3. **Percobaan 3** : Mendapatkan bahan pendekomposisi lokal alami

Tujuan percobaan adalah menseleksi isolat-isolat pendekomposisi yang diperoleh pada percobaan sebelumnya, isolat campuran lokal alami dan isolat komersial sebagai pembanding. Percobaan dilaksanakan secara eksperimen menggunakan Rancangan Acak Lengkap 2 faktor dan 3 ulangan. Perlakuan 3 kombinasi bahan baku pupuk organik terpilih (A, B, dan C) dan 5 bahan pendekomposisi terpilih dari percobaan 2. Pengamatan dilakukan terhadap kandungan hara makro (N, P, K), kandungan logam berat, nisbah C/N, kadar air, mikrob dan jumlah total populasinya. Selanjutnya bahan baku dan pendekomposisi yang terpilih akan digunakan pada penelitian tahun II dan III, dalam bentuk pupuk organik granula.